

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
dhr. J. J. Atsma
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 25 juni 2012
KENMERK CGM/120625-01
ONDERWERP Advies: klinische studie met gg-MVA-HA vaccin

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IM 12-001 met de titel 'MVA-based recombinant influenza vaccines encoding influenza virus hemagglutinins' van het Erasmus MC, deelt de COGEM u het volgende mee.

De COGEM is gevraagd te adviseren over een klinische studie met een vaccin dat bescherming moet bieden tegen een infectie door het griepvirus, het zogenaamde *Influenza A virus*. Hiervoor is een genetisch gemodificeerd Modified vaccinia virus Ankara (gg-MVA-HA) gemaakt dat codeert voor het hemagglutinine eiwit van het *Influenza A virus*. De aanvrager wil in eerste instantie de veiligheid van dit vaccin onderzoeken, maar hoopt eveneens inzicht te krijgen in de afweerreactie die het vaccin initieert.

Het MVA is veelvuldig getest en gebruikt als vaccin en kent een jarenlange historie van veilig gebruik in de mens. De COGEM beschouwt MVA als apathogeen en heeft dit virus overeenkomstig ingedeeld in de laagste pathogeniteitsklasse. Het *Influenza A virus* is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. Mede op basis van de functie van het hemagglutinine eiwit en de grote verschillen tussen MVA en het *Influenza A virus* is de COGEM van mening dat het gg-MVA-HA apathogeen is voor mens en dier. Daarnaast acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat er door recombinatie andere ggo's kunnen ontstaan. Onder naleving van voorgestelde maatregelen acht zij de kans tevens verwaarloosbaar klein dat het gg-MVA-HA zich in het milieu kan verspreiden. De COGEM merkt echter op dat de aanvrager geen experimentele gegevens betreffende de moleculaire karakterisatie van het ggo heeft aangeleverd.

Gezien bovenstaande is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen klinische studie met gg-MVA-HA waarschijnlijk verwaarloosbaar klein zijn. Op basis van de aangeleverde informatie over de moleculaire karakterisatie is de COGEM echter niet in staat de identiteit van het te testen vaccin te verifiëren. Derhalve acht de COGEM aanvullende informatie over de moleculaire karakterisatie van het vaccin noodzakelijk voordat zij een eindoordeel kan geven over de voorgenomen klinische studie.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

Met het oog op eventuele belangverstrengelingen is het COGEM lid prof. dr. R.A.M. Fouchier niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Klinische studie met genetisch gemodificeerd Modified vaccinia virus Ankara vaccin dat codeert voor het Hemagglutinine van *Influenza A virus*

COGEM advies CGM/120625-01

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over een vergunningaanvraag voor een fase I klinische studie met een genetisch gemodificeerd Modified vaccinia virus Ankara (gg-MVA-HA). Dit vaccin is ontwikkeld om bescherming te bieden tegen de gevolgen van een infectie met het *Influenza A virus*. Voor dit doel bevat het ggo de coderende sequentie voor het hemagglutinine (HA) gen van het *Influenza A virus*. In principe omvat de vergunningaanvraag het gebruik van het HA gen van alle 16 *Influenza A virus* subtypen. De te testen gg-MVA-HA vectoren coderen echter slechts één van de verschillende HA genen tegelijkertijd en de verschillende gg-MVA-HA vectoren zullen niet gecombineerd worden in deze studie. De aanvrager wil met behulp van voorgenomen studie met name inzicht krijgen in de veiligheid van deze vaccins in de mens. In de studie zal echter ook gekeken worden naar de afweerreactie die het vaccin induceert.

1.1 Modified vaccinia virus Ankara

MVA is een zeer verzwakte vorm van het Vaccinia virus Ankara, dat op zijn beurt vermoedelijk voortkomt uit het *Cowpox virus*.¹ De virussen behoren tot de familie van de *Poxviridae* en het genoom bestaat uit één lineair dubbelstrengs DNA molecuul.² Als één van de weinige DNA virussen repliceren pokkenvirussen in het cytoplasma van de gastheercel, onafhankelijk van de kern van de geïnfecteerde cel.³

Aan het einde van de 18^e eeuw, werd het *Cowpox virus* voor het eerst gebruikt als vaccin tegen het verwante *Variola virus* dat pokken veroorzaakt bij de mens. Hierna werd het virus gedurende lange tijd gehanteerd als pokkenvaccin in zowel mens als dier en is het virus genetisch geleidelijk veranderd in het virus dat nu aangeduid wordt als het *Vaccinia virus*.¹

Het *Vaccinia virus* wordt sporadisch geïsoleerd bij ziekte-uitbraken in vee, met name in India. Waarschijnlijk is het virus in de jaren zestig tijdens grootschalige vaccinatiecampagnes overgedragen aan deze dieren en heeft het zich kunnen handhaven in de kudde.^{4,5}

Overdracht van het *Vaccinia virus* vanuit de injectieplaats verloopt hoofdzakelijk door direct contact, hoewel in ziekenhuizen enkele gevallen beschreven zijn waarbij overdracht via de handen plaatsvond.^{6,7}

In de strijd tegen pokken werd tot ongeveer 30 jaar geleden iedereen ingeënt met het *Vaccinia virus*. Dit kon leiden tot ernstige complicaties, zoals over het lichaam verspreidende wondjes en ontstekingen van het hersenweefsel, met fatale afloop.^{8,9} Daarom werd in de jaren zeventig MVA ontwikkeld als veilig pokkenvaccin.

MVA is verkregen uit het Vaccinia virus Ankara na 570 passages in kippenembryofibroblasten (CEF). Dit grote aantal passages heeft geleid tot zes belangrijke deleties, met een totale grootte van 31.000 basenparen (ongeveer 9% van het genoom), in verschillende regio's van het genoom.^{10,11,12} Door deze deleties is MVA niet meer in staat om te repliceren in de meeste zoogdiercellen waaronder humane cellen.^{12,13} Het virus kan nog wel de zogenaamde 'early' en 'late' genen, én tevens recombinante genen, tot expressie brengen in humane cellen, zodat het een geschikte vector voor gentherapie is.

MVA is veelvuldig getest en gebruikt als vaccin en heeft zijn veiligheid bewezen in meer dan 120.000 gevaccineerde personen.¹⁴ De veiligheid van MVA is tevens aangetoond in HIV-geïnfekteerde personen en kankerpatiënten.^{15,16,17,18} In onderhavige studie wordt een afgeleide gebruikt van de oorspronkelijke MVA stam. Het betreft het zogenaamde MVA-F6-sfMR dat is verkregen na 13 opeenvolgende passages van MVA op CEFs waaronder een aantal passages onder serum-vrije condities.

1.2 Influenza A virus

Het *Influenza A virus*, in de volksmond beter bekend als het griepvirus, is een RNA virus dat behoort tot de familie *Orthomyxoviridae*. Deze familie is onderverdeeld in vijf genera, waaronder *Influenzavirus A*, *B* en *C*. Alleen het *Influenzavirus A* kan zowel mensen, vogels als zoogdieren infecteren.^{19,20} Het genoom van het *Influenzavirus A* bestaat uit acht unieke genoomsegmenten die coderen voor tien eiwitten, waaronder haemagglutinine (HA) en neuraminidase (NA).^{19,20}

Typering van influenzavirussen vindt plaats op basis van de aanwezige HA en NA subtypen. In totaal zijn er voor het *Influenzavirus A* 16 verschillende haemagglutinine subtypen (H1 t/m H16) en 9 verschillende neuraminidase subtypen (N1 t/m N9) bekend. Bij vogels komen alle subtypen voor. Bij de mens komen voor zover bekend alleen de H1, H2, H3, H5, H7, H9, N1 en N2 subtypen voor.^{21,22,23}

In de studie wordt alleen gebruik gemaakt van de HA coderende sequenties. Het HA zorgt voor binding van het virusdeeltje aan de gastheercel en membraanfusie van het virusmembraan en het endosomale membraan. Het HA speelt ook een belangrijke rol bij de aanmaak van antistoffen tegen het virus.^{24,25}

2. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft in het verleden geadviseerd MVA als apathogeen aan te merken, omdat het virus onschadelijk is gebleken bij toepassing in mens en dier.²⁶ In een recent advies met de herziene versie van de classificatie van de virussen is dit niet gewijzigd en is MVA ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.²⁷ In ditzelfde advies is het *Influenza A virus* ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.

In 2003 heeft de COGEM reeds een advies uitgebracht over een fase I klinische studie met een op MVA gebaseerd vaccin waaraan een aantal genen van HIV-1 subtype A waren toegevoegd.²⁸ Het ggo werd in drie verschillende doses (max. 5×10^8 plaque-vormende eenheden) zowel intramusculair, subcutaan als intradermaal toegediend. De COGEM achtte de risico's van deze studie voor mens en milieu verwaarloosbaar klein. Zij stelde daarbij als aanvullende voorwaarde

dat naast het beddengoed ook de kleding ontsmet werd, aangezien beide besmet kunnen raken als de injectieplaats niet goed is afgeplakt.

In 2006 heeft de COGEM geadviseerd over het gebruik van een gg-MVA dat sequenties van het HIV-I subtype B bevatte.²⁹ Het vaccin werd via twee opeenvolgende intramusculaire injecties in doses van $1 \times 10^{7.5}$ plaque-vormende eenheden toegediend. De COGEM was van mening dat de toevoeging van de HIV genen het apathogene karakter van MVA niet veranderde en achtte de risico's voor mens en milieu van deze studie verwaarloosbaar klein. Ter aanvulling op de voorschriften adviseerde de COGEM om waterbestendige pleisters te gebruiken om de injectieplaats af te dekken en om de deelnemers hygiëne-instructies te geven over het verwijderen van de pleister. In de ogen van de COGEM minimaliseerde dit de kans op verspreiding van het virus. Zij tekende daarbij aan dat zelfs als verspreiding optreedt zij de kans dat het vaccivirus niet-proefpersonen infecteert, verwaarloosbaar klein acht en het virus niet in humane cellen kan repliceren, waardoor een eventuele infectie zal uitdoven.

3. Voorgenomen werkzaamheden

In de voorgenomen studie is de aanvrager van plan een vaccin tegen het *Influenza A virus* te bestuderen. Daartoe zal het vaccin maximaal drie keer (met een tussenliggende periode van 3 tot 4 weken) intramusculair in de bovenarm van vrijwilligers toegediend worden. De doseringen variëren van 10^6 tot 10^8 plaque-vormende eenheden.

De effectiviteit van het vaccin zal serologisch gevolgd worden. Hiervoor zullen vlak vóór vaccinatie, 1 uur na vaccinatie en 4 weken na vaccinatie bloedmonsters afgenomen worden. De bloedmonsters worden geanalyseerd op de aanwezigheid van influenza- en MVA-specifieke antilichamen en T-cellen.

Na vaccinatie wordt de injectieplaats met 70% alcohol gedesinfecteerd en met een waterbestendige pleister afgedekt. Een uur na vaccinatie kunnen de vrijwilligers het ziekenhuis verlaten. Na 24 uur mogen de vrijwilligers de pleister verwijderen. De pleister dient gedesinfecteerd te worden met 70% alcohol en kan volgens de aanvrager in een afgesloten zakje bij het huisafval worden gedeponeerd.

4. Overweging

4.1 Karakterisatie van het gg-MVA-HA

In principe wordt verzocht om 16 verschillende gg-MVA-HA vectoren in de studie te mogen bestuderen. Deze worden alle op eenzelfde manier door middel van twee homologe recombinaties verkregen. Hierdoor wordt de expressiecassette van het HA in het zogenaamde deletie gebied III van MVA gecloneerd. Naast de coderende sequentie voor HA bevat de expressiecassette twee korte 'stuffers' (opvulsequenties) en een korte synthetische promotor. Deze synthetische promotor wordt gereguleerd door het pokkenvirus RNA polymerase complex.³⁰ Uit de aanvraag blijkt dat de zogenaamde 'master seed stocks' van verschillende gg-MVA-HA vectoren al zijn gemaakt. Maar de te testen klinische batches van de verschillende vaccins zijn nog niet geproduceerd. In de aanvraag wordt tot op zeker hoogte beschreven op welke wijze de identiteit van de gg-MVA-HA vectoren is vastgesteld en hoe ze moleculair zijn gekarakteriseerd. De aanvrager heeft echter geen

resultaten van de beschreven analyses overlegd. Voor de te testen klinische batches heeft de aanvrager aangegeven aan welke criteria voldaan moet worden voordat de batch wordt goedgekeurd voor gebruik.

Om tot een reële inschatting te komen van de milieurisico's van klinische studies met ggo's acht de COGEM het van belang dat het te testen gg-MVA-HA in voldoende detail moleculair is gekarakteriseerd, opdat er geen onbewuste wijzigingen in het ggo zijn ontstaan. Zij hecht daarbij grote waarde aan experimentele gegevens waarop de aanvrager de moleculaire identiteit van het ggo heeft gebaseerd. Deze informatie is niet in de onderhavige aanvraag opgenomen. Voor een goede onderbouwing van de moleculaire karakterisering acht de COGEM met name een gedegen (sequentie) analyse van het insert en de flankerende sequenties in het te testen ggo noodzakelijk.

Bovendien wordt het ontbreken van deze gegevens niet voldoende gecompenseerd door een uitvoerige beschrijving van de assays die gebruikt zullen worden om de vectorbatch te karakteriseren en de criteria waaraan de batch moet voldoen. De COGEM wijst hierbij op het feit dat de aanvrager een batch goedkeurt als 90% van de virusdeeltjes het HA gen bevatten. Dit houdt in dat 10% van de te testen virusbatch uit andere (MVA) virusdeeltjes kan bestaan dan het beschreven gg-MVA-HA. De oorsprong en identiteit van deze virusdeeltjes worden niet nader gespecificeerd.

De COGEM is derhalve van mening dat de aangeleverde informatie met betrekking tot de karakterisatie van het ggo op dit moment onvoldoende is, om te kunnen concluderen dat het te testen vaccin overeen zal komen met het beschreven gg-MVA-HA.

4.2 Pathogeniteit ggo

Zoals vermeld, beschouwt de COGEM de MVA vector als avirulent en onschadelijk bij toepassing in mens en dier. Bij de herziening van de classificatie van de virussen eerder dit jaar heeft zij dan ook geadviseerd om deze vector in de laagste pathogeniteitsklasse te handhaven.

Het HA bevindt zich in het membraan van het *Influenza A virus* en is verantwoordelijk voor de aanhechting van het virus aan de gastheercellen. De aanvrager acht het hoogst onwaarschijnlijk dat het HA eiwit onderdeel zal uitmaken van het membraan van de gg-MVA-HA deeltjes. Dit komt voort uit de verschillende wijze waarop influenza A virusdeeltjes en pokkenvirusdeeltjes ingepakt worden. Hij voegt daaraan toe dat zelfs als, in het uitzonderlijke geval, het HA eiwit in het membraan van de gg-MVA deeltjes opgenomen wordt, het hoogstwaarschijnlijk verloren gaat gedurende het zuiveringsproces van het vaccin, doordat het fragiele membraan van het MVA daartegen niet bestand is. Daarnaast verwacht hij niet dat het tropisme van het gg-MVA-HA door aanwezigheid van het HA eiwit wezenlijk zal verschillen, aangezien het tropisme van MVA al zeer groot is.

Op basis van de verschillen in assemblage van de virusdeeltjes acht de COGEM de kans zeer klein dat het HA in het gg-MVA deeltje wordt ingebouwd. Bovendien onderschrijft zij dat het celtropisme van MVA erg breed is. In het theoretische geval dat het HA toch ingebouwd wordt in de virusenvelop van MVA, verwacht de COGEM daarom niet dat dit tot een uitbreiding van het celtropisme zal leiden.

Onder de voorwaarde dat het ggo voldoet aan de door de aanvrager opgegeven moleculaire specificaties acht de COGEM met het oog op de zeer kleine kans dat het HA eiwit in het membraan van het gg-MVA-HA virusdeeltje aanwezig is, het brede celtropisme dat MVA 'van nature' bezit en de functie van het HA eiwit in de infectiecyclus van het *influenza A virus* de kans verwaarloosbaar klein dat de insertie van het HA gen in MVA de (apathogene) eigenschappen van MVA zal beïnvloeden.

4.3 Shedding van gg-MVA-HA

De aanvrager acht het zeer onwaarschijnlijk dat het ggo door de vrijwilligers uitgescheiden zal worden. Hij baseert zich daarbij ondermeer op een studie van Stittelaar *et al.* in immuungecompromiteerde makaken.³¹ Na de toediening van in totaal 10^9 plaque-vormende eenheden MVA werd het virusgenoom weliswaar aangetroffen in onder andere plasma, perifere bloed mononucleaire cellen en lymfeklieren van de makaken, maar er konden geen levensvatbare MVA-deeltjes worden geïsoleerd. Daarnaast werden in een klinische studie van Rochlitz *et al.* zowel 1 uur als 8 dagen na toediening van maximaal 10^8 plaque-vormende eenheden MVA geen virusdeeltjes of viraal DNA aangetroffen in het bloed van geïmmuniseerde vrijwilligers.³² Ook werden er geen virusdeeltjes en viraal DNA gevonden in de urine van de vrijwilligers.

De aanvrager is derhalve van mening dat alleen shedding op zou kunnen treden door het lekken van virus uit de injectieplaats. Uit een onderzoek in 2004 blijkt dat wanneer het *Vaccinia virus* als vaccin wordt toegediend, dit soms detecteerbaar is op de pleister waarmee de injectieplaats wordt afgedekt.³³ Daarnaast werd het virus in sommige gevallen aangetoond op de handen na het verwijderen van de pleister. Om deze vorm van verspreiding in het milieu te voorkomen stelt de aanvrager voor om de injectieplaats af te dekken met een waterbestendige pleister. Deze wordt 24 uur later verwijderd door de proefpersonen, gedesinfecteerd en in een afgesloten zakje bij het huisafval gedeponeerd. De injectieplaats zal vervolgens worden ontsmet met 70% alcohol en worden de handen gewassen.

Op basis van bovenstaande studies met MVA acht de COGEM de kans zeer klein dat shedding van het ggo via lichaamsvloeistoffen of afscheidingsproducten van de proefpersonen plaats zal vinden. Door het volgen van de beschreven managementmaatregelen is de COGEM bovendien van mening dat de kans dat het virus via de injectieplaats in het milieu terecht komt tot een minimum wordt beperkt. Zij merkt daarbij op dat indien shedding onverhoopt toch op zou treden, de hoeveelheid MVA zeer gering zal zijn en een eventuele infectie van derden spoedig uit zal doven, aangezien het ggo niet in staat is te repliceren in mensen.

Op basis van bovenstaande overweging en het feit dat het ggo als apathogeen wordt beschouwd mits deze voldoet aan de opgegeven specificaties is de COGEM van mening dat de risico's van shedding van het ggo verwaarloosbaar klein zijn.

4.4 Recombinatie

Na toediening van het vaccin zou theoretisch recombinatie op kunnen treden met andere pokkenvirussen. De aanvrager geeft aan dat er meerder endogene pokkenvirus in Nederland

aanwezig zijn. De meeste endogene pokkenvirussen behoren tot een ander genus dan het MVA en bezitten te weinig sequentie overeenkomst om recombinatie met gg-MVA-HA mogelijk te maken. Eventuele recombinatie beperkt zich daarom tot de pokkenvirussen die net als MVA behoren tot het genus van de Orthopoxvirussen. De aanvrager geeft aan dat van de mogelijke kandidaten die afgelopen 50 jaar alleen het *Cowpox virus* in Nederland is aangetroffen.

Voor recombinatie van een dergelijk pokkenvirus met het gg-MVA-HA dienen beide virussen tegelijkertijd in dezelfde cel aanwezig te zijn. De aanvrager stelt dat gemiddeld slechts een persoon per jaar met dit virus wordt geïnfecteerd. Bovendien infecteert het *Cowpox virus* de mens meestal via het oog, terwijl het MVA intramusculair in de arm wordt toegediend. Daarnaast wijst de aanvrager erop dat het gg-MVA-HA zich slecht korte tijd zal kunnen handhaven in de cellen van de vrijwilliger, aangezien de vector niet in staat is zich te vermenigvuldigen.

De COGEM beaamt dat het gg-MVA-HA alleen zal recombineren met pokkenvirussen die tot hetzelfde genus als MVA behoren en zij onderschrijft dat infecties met betreffende orthopoxvirussen in Nederland bij mensen praktisch niet voorkomen. In Nederland wordt alleen het *Cowpox virus* nog sporadisch aangetroffen.^{34 35} Bovendien acht zij onder gestelde condities de kans zeer klein dat eenzelfde cel tegelijkertijd geïnfecteerd wordt met zowel het *Cowpox virus* als het gg-MVA-HA. Op basis van bovenstaande overweging is de COGEM van mening dat de kans op recombinatie van het ggo met andere pokkenvirussen verwaarloosbaar klein is.

Theoretisch zou het gg-MVA-HA ook kunnen recombineren of reassorteren met een *Influenza A virus*. Ook hier geldt de voorwaarde dat beide virussen tegelijkertijd in dezelfde cel aanwezig moeten zijn. De COGEM acht de kans zeer klein dat hieraan wordt voldaan, aangezien een infectie met influenza A virussen plaatsvindt in de luchtwegen en het MVA wordt toegediend in de spieren van de bovenarm. Bovendien zullen de met MVA geïnfecteerde cellen zich slechts een korte periode kunnen handhaven voordat ze door het immuunsysteem worden geruimd. Daarnaast wordt de kans op recombinatie geminimaliseerd door het feit dat het genoom van beide virussen zich in verschillende celcompartimenten bevinden. Het genomisch materiaal van MVA bevindt zich in het cytoplasma en dat van het *Influenza A virus* bevindt zich in de kern. De COGEM acht de kans derhalve verwaarloosbaar klein dat een recombinatie plaatsvindt tussen het gg-MVA-HA en een influenza A virus.

Ook de kans op een eventuele reassortment is volgens de COGEM verwaarloosbaar klein, aangezien het ggo de originele 3'- en 5'-flankerende sequenties van het HA gen mist die nodig zijn voor transcriptie en replicatie en het HA gen zonder deze sequenties niet in een influenza virusdeeltje ingepakt kan worden.

Hierbij merkt de COGEM bovendien op dat het HA gen zelf niet gemodificeerd wordt. Dit betekent dat als het HA gen in theorie al via recombinatie of reassortment in het genoom van een *Influenza A virus* wordt opgenomen, dit hooguit zal leiden tot een virus dat in de natuur ook zou kunnen ontstaan.

Ook bovenstaande inschatting van recombinaties of reassortments is gebaseerd op de aanname dat het ggo moleculair gezien, overeenkomt met de beschrijving van de aanvrager.

5. Conclusie

De COGEM is van mening dat de toevoeging van de coderende sequentie van HA aan MVA geen invloed heeft op de (a)pathogeniteit van MVA. Zij beschouwt het gg-MVA-HA derhalve als apathogeen. Tevens acht zij de kans dat er door recombinatie andere ggo's kunnen ontstaan verwaarloosbaar klein. Onder navolging van de beschreven managementmaatregelen is de COGEM bovendien van mening dat de kans verwaarloosbaar klein is dat het ggo in het milieu uitgescheiden wordt. De aanvrager heeft geen experimentele onderbouwing aangeleverd van de moleculaire samenstelling van de te testen gg-MVA-HA vaccins. Hierdoor is de COGEM niet in staat de identiteit van de ggo's te verifiëren en blijft het onduidelijk of de milieurisicoanalyse zich kan beperken tot de beschreven ggo's.

Met het oog op bovenstaande verwacht de COGEM dat de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen klinische studie met gg-MVA-HA onder navolging van voorgestelde werkvoorschriften vermoedelijk verwaarloosbaar klein zijn. Door het ontbreken van experimentele gegevens die de moleculaire karakterisatie onderbouwen kan de COGEM echter niet tot een eindoordeel komen. Hiervoor acht zij aanvullende informatie noodzakelijk.

6. Referenties

- 1 Moss B (2001). Poxviridae: The viruses and their replication. In: Fields Virology, volume 2, fourth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia. 2849-84
- 2 Skinner MA *et al.* (2012). The Double Stranded DNA Viruses, family *Poxviridae*. In: Virus Taxonomy, Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Edited by King AMQ *et al.* Elsevier Academic Press, Amsterdam 291-309
- 3 Esposito JJ and Fenner F (2001). Poxviruses. In: Fields Virology, volume 2, fourth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia. 2885-2921
- 4 Buller RML & Palumbo GJ (1991). Poxvirus pathogenesis. *Microbiol Rev* 56: 80-122
- 5 Lewis-Jones S (2004). Zoonotic poxvirus infections in humans. *Curr opin inf dis* 17: 81-9
- 6 Talbot TR *et al.* (2004). Risk of Vaccinia transfer to the hands of vaccinated persons after smallpox immunization. *Clin Infect Dis* 35: 536-41
- 7 Sepkowitz K (2003). How contagious is Vaccinia? *N Engl J Med* 348(5): 439-46
- 8 Lane JM *et al.* (1969). Complications of smallpox vaccination, 1968. *N. Engl. J. Med.* 281 (22): 1201-8
- 9 Landelijke coördinatiestructuur infectieziektebestrijding/Cib/RIVM. (2003). Variola-pokken Internet: [http://www.rivm.nl/Bibliotheek/Professioneel Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/Variola_pokken](http://www.rivm.nl/Bibliotheek/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/Variola_pokken) (30/05/2012)
- 10 Antoine G *et al.* (1998). The complete genomic sequence of the modified vaccinia Ankara strain: comparison with other orthopoxviruses. *Virology* 244: 365-96
- 11 Mayr A *et al.* (1978). The smallpox vaccination strain MVA: marker, genetic structure, experience gained with the parenteral vaccination and behavior in organisms with a debilitated defence mechanism. *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B* 167: 375-90
- 12 Sutter G & Moss B (1992). Nonreplicating vaccinia vector efficiently expresses recombinant genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10847-51
- 13 Drexler I *et al.* (1998). Highly attenuated modified vaccinia virus ankara replicates in baby hamster kidney cells, a potential host for virus propagation, but not in various human transformed and primary cells. *J. Gen. Virol.* 79: 347-52

- 14 Mayr A *et al.* (1978). Vaccination agsanst pox diseases under immunosuppressive conditions. *Dev Biol Stand* 41: 225-34
- 15 Greenough TC *et al.* (2008). Safety and immunogenicity of recombinant poxvirus HIV-1 vaccines in young adults on highly active antiretroviral therapy. *Vaccine* 26:6883-93
- 16 Cosma A *et al.* (2007). Evaluation of modified vaccine virus Ankara as an alternative vaccine against smallpox in chronically HIV type 1-infected individuals undergoing HAART. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23:782-93
- 17 Harrop R *et al.* (2010). Cross-trial analysis of immunologic and clinical data resulting from phase I and II trials of MVA-5T4 (TroVax) in colorectal, renal, and prostate cancer patients. *J Immunother* 33:999-1005
- 18 Oudard S *et al.* (2011). A phase II study of the cancer vaccine TG4010 alone and in combination with cytokines in patients with metastatic renal clear-cell carcinoma: clinical and immunological findings. *Cancer Immunol Immunother* 60:261-71
- 19 McCauley JW *et al.* (2012). The Negative Sense Single Stranded RNA viruses, family *Orthomyxoviridae*. In: *Virus Taxonomy*, Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Edited by King AMQ *et al.* Elsevier Academic Press, Amsterdam. 749-61
- 20 Wright PF and Webster RG (2001). Orthomyxoviruses. In: *Fields Virology*, volume 2, fourth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia. 1533-79
- 21 Flint, SJ *et al.* (2004). *Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control.* ASM Press, Washington, D.C.
- 22 Lewis, DB (2006). Avian flu to human influenza. *Annu Rev Med* 57: 139-54
- 23 Belser JA *et al.* (2009). Past, present, and possible future human infection with *Influenza A virus* subtype H7. *Review Em Inf Dis* 15(6): 859-65
- 24 Brown, EG (2000). Influenza virus genetics. *Biomed Pharmacother* 54: 196-209
- 25 Zambon, MC (2001). The pathogenesis of influenza in humans. *Rev Med Virol* 11: 227-41
- 26 COGEM (2003). Classificatie geattenueerde pokkenvirus-stammen en aanvullende voorschriften (CGM/030519-06)
- 27 COGEM (2012). Classificaties van humaan- en dierpathogene virussen (CGM/120301-01)
- 28 COGEM (2003). MVA-HIV A vaccin klinische fase I studie (CGM/031211-02)
- 29 COGEM (2006). Fase I klinische studie met een genetisch gemodificeerd MVA virus gericht tegen HIV-B. (CGM/061012-01)
- 30 Wyatt LS *et al.* (2004). Multiprotein HIV type 1 clade B DNA and MVA vaccines: construction, expression, and immunogenicity in rodents of the MVA components. *AIDS Res Hum Retroviruses* 20: 645-53
- 31 Stittelaar KJ *et al.* (2001). Safety of modified vaccinia virus ankara (MVA) in immune-suppressed macaques. *Vaccine* 19: 3700-9
- 32 Rochlitz C *et al.* (2003). Phase I immunotherapy with a modified vaccinia virus (MVA) expressing human MUC1 as antigen-specific immunotherapy in patients with MUC1-positive advanced cancer. *J Gene Med* 5: 690-9
- 33 Talbot TR *et al.* (2004). Risk of Vaccinia transfer to the hands of vaccinated persons after smallpox immunization. *Clin Infect Dis* 35: 536-41
- 34 Koopmans MPG (2005). Poxviridae en de volksgezondheid. *Infectieziekten Bulletin* 16: 94-5
- 35 Vennema H (2005). Reactie op brief. *Infectieziekten Bulletin* 16: 345